



TITLE:

A study on light responsiveness in the
suprachiasmatic nucleus under jet lag
condition(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Yulin, Chen

CITATION:

Yulin, Chen. A study on light responsiveness in the suprachiasmatic nucleus under jet lag condition. 京都大学, 2016, 博士(薬科学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19670>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により本文は2021-03-31に公開; 許諾条件により要約は2017-03-22に公開

京都大学	博士（薬科学）	氏名	陳 宇林
論文題目	A study on light responsiveness in the suprachiasmatic nucleus under jet lag condition （時差環境下における視交叉上核の光応答性に関する研究）		
（論文内容の要旨）			
Introduction <p>Many organisms living on the earth have an internal clock which drives oscillations in behavior and physiology, such as sleep-wake cycles and body temperature, with a period of about 24-hr. In mammals, the endogenous clock is orchestrated by the master clock in the suprachiasmatic nucleus (SCN) of the hypothalamus, whose coherent output signal synchronizes cellular clocks throughout the body. We are not aware of this system in routine life because it is completely synchronized with environmental light-dark cycles. However, , when travelling rapidly across multiple time zones, jet-lag symptoms arise due to the temporal misalignment between the internal circadian clock and external solar time. Recently, our laboratory has revealed that mice genetically deficient in arginine vasopressin (AVP) receptors V1a and V1b (<i>V1a^{-/-}V1b^{-/-}</i> mice) are resistant to jet lag; circadian rhythms of locomotor activity, clock gene expression, and body temperature in <i>V1a^{-/-}V1b^{-/-}</i> mice reentrained immediately after 8-hr phase advance of light/dark (LD) cycles, whereas those in wild-type (WT) mice needed 8-10 days for reentrainment.</p> <p>It is known that mammalian endogenous circadian rhythmicity is precisely entrained to the 24-hr day/night cycle by periodic environmental light cues. Here we investigate role of environmental light on the recovery from jet-lag by examining the immunoreactive levels of a transcriptional regulatory protein, c-Fos, a marker of neuronal activity, in the suprachiasmatic nuclei of C57BL wild type (WT) animals and <i>V1a^{-/-}V1b^{-/-}</i> mice. Our results suggest that the new light-dark schedule acts on the SCN neurons not after the complete recovery but during the process of recovery in jet lag.</p>			
Chapter 1. Expression of clock genes in SCN neurons under experimental jet lag condition. <p>I examined the expression of clock genes at cell level in the SCN by <i>in situ</i> hybridization using digoxigenin-labeled probes. Before light-dark (LD) phase advance, circadian expression of <i>Per1</i>, a core clock gene, in the WT and <i>V1a^{-/-}V1b^{-/-}</i> SCN were quite similar; <i>Per1</i> expression was seen in the periventricular part of dorsomedial (DM) part of the SCN at ZT2 (ZT stands for Zeitgeber time used in LD cycle; ZT0 is lights-on and ZT12 is lights-off) and across the SCN at ZT6, while very few <i>Per1</i>-positive cells were found at ZT14-22 (nighttime). However, <i>Per1</i> expression was damped during the process of jet lag. Moreover, <i>Per1</i> was moderately expressed in retino-recipient ventrolateral (VL) part of the SCN of WT</p>			

mice in the nighttime at day 1, 2, and 3 after LD phase advance. At day 9, circadian expression of *Per1* gene recovered in WT SCN, while it took only 3 days in *Vla^{-/-}Vlb^{-/-}* SCN. Next, I checked circadian expression of *Dbp*, a clock output gene. *Dbp* was expressed in many neurons in the daytime, but was almost not expressed in the nighttime both in WT and *Vla^{-/-}Vlb^{-/-}* SCN before LD phase advance. Similar to *Per1* expression, *Dbp* was observed only in VL at ZT4 and was moderately expressed in WT SCN in the nighttime at day 1, 2, and 3 after LD phase advance. Circadian expression of *Dbp* recovered at day 9 in WT SCN, while it needed only 3 days in *Vla^{-/-}Vlb^{-/-}* SCN. These results clearly demonstrate that clock gene rhythms in *Vla^{-/-}Vlb^{-/-}* SCN reentrained faster than those in WT SCN. Furthermore above findings suggest that cellular rhythms were damped during the recovery of jet-lag conditions.

Chapter 2. c-Fos immunoreactivity in the SCN under jet lag condition.

To examine light responsiveness in the SCN under jet lag condition, I performed immunohistochemistry using antibody against c-Fos. At first, I examined c-Fos immunoreactivity in WT SCN around the clock at day 1 after LD phase advance, and found that the number of c-Fos-positive cells was largest at 1-hr after light-on (ZT1). Next, I counted the number of c-Fos-positive cells at ZT1 before and after LD phase advance (until day 8 and day 5 for WT and *Vla^{-/-}Vlb^{-/-}* SCN, respectively). The number of c-Fos-positive cells was largest at day 1 under jet lag condition. Interestingly, statistically more c-Fos-positive cells were observed at day 2-5 compared with those before LD phase advance in WT SCN. *Vla^{-/-}Vlb^{-/-}* SCN also showed the dramatic increase in c-Fos-positive cells at day 1, but the number decreased rapidly and there was no statistic difference at day 3 after LD phase advance compared with those before LD phase advance. These results indicate that light responsiveness continues until day 5 in WT SCN, while it does only 2 days in *Vla^{-/-}Vlb^{-/-}* SCN under jet lag condition.

Conclusion

In this study, I obtained the results that clock gene expression and cFos expression was observed in the retino-recipient area of the SCN during the recovery process of the jet lag. However, these cells still showed c-Fos immunoreactivity at day 5, suggesting that retino-recipient cells in the SCN reentrained at day 6 after the beginning of jet lag. Whole WT SCN recovered at least day 9 after LD phase advance. Light responsiveness continues until day 5 in WT SCN, although that in *Vla^{-/-}Vlb^{-/-}* SCN finished at day 3 after the initiation of jet lag. These results indicate that *Vla^{-/-}Vlb^{-/-}* signaling has a key role in the speed of reentrainment under jet lag condition, and highlight importance as a therapeutic target for management of circadian rhythm misalignment, such as jet lag.

(論文審査の結果の要旨)

概日リズムは、数十億年にも及ぶ地球の生命が、地球の自転による太陽からの光照射が厳密に24時間周期で変動することを利用して、進化の末に獲得した時間管理システムである。この体内時計を制御する中枢は、視床下部の視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus: SCN) にある。概日リズムを形成する分子メカニズムは *Per* 遺伝子群を中心とする時計遺伝子の時間発生装置であり、これは全身の細胞に存在する。最高位中枢であるSCNは、ホルモン分泌や神経伝達により全身の装置を調律し、個体としての概日リズムを統括している。日常生活の中では、体内時計は外界の明暗周期に完全に同調しているため、その存在を実感することはない。ところが、20世紀中頃ジェット飛行機が開発され、これによる東西方向の海外渡航が可能となり、人類は生物で初めて、体内時計と環境の明暗周期の乖離を体験することとなった。これが、不眠や食欲不振を伴う時差症候群である。同症状は、慢性的な時差環境下での生活を強いられるシフトワーカーでも認められ、増加する心血管障害や肥満、糖尿病などの生活習慣病や癌などの発症リスクは、社会問題となっている。

申請者らのグループは、以前、SCNに発現するアルギニンバソプレッシン (AVP) の受容体である *V1a* と *V1b* のダブルノックアウトマウス (*V1a*^{-/-} *V1b*^{-/-} マウス) が、時差環境下において新しい明暗環境に対して極めて迅速に再同調し、全く時差症状を示さないことを見いだした。この時差の無い *V1a*^{-/-} *V1b*^{-/-} マウスを利用した研究は、時差の分子神経機構を解明するには、非常に有用であると考えられる。

そこで、申請者は、これまで明らかではなかった、時差環境下の *V1a*^{-/-} *V1b*^{-/-} マウスと野生型 (WT) マウスのSCNにおける時計遺伝子mRNAの発現変動を、SCNの細胞レベルで解析した。WTのSCNでは、時差直後に光情報が入力するSCNの腹外側部で *Per1* が転写誘導され、時差後2日目よりSCNの概日リズムの位相が再同調を開始し、時差後9日目に時差前と同様の概日リズムが回復した。一方、*V1a*^{-/-} *V1b*^{-/-} のSCNでは、時差直後の誘導はWTのSCNのものとほとんど同様であったが、SCNの概日リズムの位相の再同調の完了は時差後3日目と極めて迅速であった。更に申請者は、神経活動マーカーであるc-Fos蛋白質の発現を検索し、時差環境下における光刺激が、SCNの細胞に対して日々どのように作用するのかについて検討した。その結果、新明暗環境の光は、WTのSCNを少なくとも時差後3日目まで、長期にわたり活性化するのに対して、*V1a*^{-/-} *V1b*^{-/-} のSCNの活性化は時差後1日目のみであることがわかった。

以上の結果は、時差環境下においては、環境周期の朝の光がSCN細胞の活性化を引き起こし、新明暗環境のリズムへの再同調を促進していることを示唆するものである。これは、新明暗周期への同調の過程では、不自然な神経活動の増大を伴い、時差障害の原因の分子メカニズムを始めて示したものと注目される。また、この時差環境下における光応答性に関する研究は、SCNにおける光情報受容領域と光情報非受容領域の新規の制御機構の存在を示唆し、非常に興味深い。

よって、本論文は博士 (薬科学) の学位論文として価値あるものと認める。また、平成28年2月22日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当分の間、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日： 年 月 日以降